

腎細胞癌症例における尿中 Glycine・Prolile dipeptidile aminopeptidase, N-Acetyl- β -D-glucosaminidase, Alanine aminopeptidase および低分子蛋白排泄量の検討

県立がんセンター新潟病院泌尿器科 (部長: 坂田安之輔)

北村 康男, 渡辺 学, 小松原秀一, 坂田安之輔

URINARY EXCRETION OF GLYCINE•PROLILE DIPEPTIDILE AMINOPEPTIDASE, N-ACETYL- β -D-GLUCOSAMINIDASE, ALANINE AMINOPEPTIDASE AND LOW MOLECULAR PROTEIN IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

Yasuo Kitamura, Manabu Watanabe, Syuichi Komatsubara
and Yasunosuke Sakata

From the Department of Urology, Niigata Cancer Center Hospital,

Urinary excretion of glycine • prolile dipeptidile aminopeptidase (GP-DAP), N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), alanine aminopeptidase (AAP) and β_2 -microglobulin (β_2 -M), α_1 -microglobulin (α_1 -M) was studied preoperatively in 32 patients with renal cell carcinoma. The excretion indices of GP-DAP, AAP and NAG were significantly higher than those in the healthy control group. The excretion of these enzymes obviously reflected the degree of the tumor progression. However, positive rates were not remarkable (37% for GP-DAP, 37% for AAP and 28% for NAG). The excretion of β_2 -M and α_1 -M was not increased in renal cell carcinoma patients.

(Acta Urol. Jpn. 36: 535-539, 1990)

Key words: Renal cell carcinoma, Urinary tumor marker, GP-DAP, AAP, NAG

緒 言

腎細胞癌の治療においては、早期発見、早期診断が予後を左右する最も重要な因子であることはいうまでもない。その早期診断の手段として、近年種々の腫瘍マーカーが開発されてきているが、腎細胞癌に関しては有力な腫瘍マーカーは確立されていないように思われる。血中マーカーでは、腫瘍自体が分泌するものとして、エリスロポエチン、レニン、angiotensin converting enzymeなどが期待されているが、その陽性率は50%未満に過ぎない。非特異的マーカーではIAP、シアル酸、CRPの陽性率が60~80%を認め、現時点ではIAP、シアル酸¹⁾が腎細胞癌においては、最も良いマーカーとされている。

一方尿中マーカーとしては最近 S100- α 蛋白質²⁾、NAG³⁾などがマーカーとしての可能性が期待されているという報告が散見されるようになってきた。

今回われわれは腎細胞癌症例に対して3種類の尿中

酵素と2種類の尿中低分子蛋白を測定し検討を加えたので報告する。

対象および方法

対象症例は1988年3月から1989年5月までに、新潟がんセンター泌尿器科に入院した新患の腎細胞癌症例32例とした。うち3例は全身状態および浸潤性、さらに巨大な遠隔転移巣を有するために腎摘出術を施行できず、その組織像は得られていないが、画像診断、臨床症状により腎細胞癌と確信される症例である。他の29例に対してはリンパ節郭清術を伴う根治的腎摘出術を施行した。対照としての健常者は25~35歳の18名とした。これらの症例に対して尿中酵素として腎近位尿管に特異的に多く含まれる酵素である glycine • prolile dipeptidile aminopeptidase (以下 GP-DAP)⁴⁾、N-acetyl- β -D-glucosaminidase (以下 NAG)、alanine aminopeptidase (以下 AAP) を測定した。また尿中低分子蛋白として β_2 -microglo-

bulin (以下 β_2 -M) と α_1 -microglobulin (以下 α_1 -M) を測定した。

検体の採取法は原則として1日蓄尿の一部を用いた。測定方法は NAG は NAG テスト (塩野義製薬) を用いて測定し, AAP は L-alanine-P nitro anilide を基質にした富士レビオ社製キットを用いた。GP-DAP は gly-L pro-3,5-dibromo-4 hydroxyamilide を基質とした富士レビオ社キットにより, 日立自記分光光度計705型を用いて測定した。 β_2 -M はフェルマシア β_2 -microglobulin (第一RI 社) を, α_1 -M は Immuzyme α_1 -M (富士レビオ社) を用いて測定した。

なお統計学的な有意差検定は Wilcoxon の検定を用いた。

結 果

1. 側常者と腎細胞癌症例の比較

健常者と腎細胞癌症例における尿中濃度を Table 1 に示した。尿中酵素は濃度をクレアチニン濃度で割った index (I) でも示した。GP-DAP は1日排泄量 (GP-DAP/day) も求めた。健常人と腎細胞癌症例の両者の間には GP-DAP と AAP の index においては危険率1%で有意差を認め、GP-DAP/day, AAP 濃度, NAG-I においては危険率5%で腎細胞癌症例では有意に高い値を認めていた。 β_2 -M, α_1 -M では有意差を認めなかった。

健常者の2倍以上を陽性とした場合、腎細胞癌症例におけるそれぞれの陽性率は GP-DAP/day は34.3%, GP-DAP-I は37.5%, NAG-I は28.1%, AAP-I は37.5%であった (Table 2-1)。

2. 腎細胞癌症例における組織学的差異による尿中マーカーの変動について

健常者と有意差を認めた各酵素につき, どのような条件において有意差を認めているかについて検索してみた。なお腎細胞癌の組織学的所見の分類は腎癌取扱規約によった。

1) Stage 別

Stage 別にみた各酵素の値を Table 2-2 に示した。stage 1 が22例, stage 2 はなく stage 3, 4 は5例ずつであった。GP-DAP/day, GP-DAP-I では stage 1 と 4 および stage 1 と 3 の間に有意差を認めていた。NAG-I, AAP-I では stage 1 と 3 の間には有意差を認めていたが, stage 1 と 4 の間には有意差を認めなかった。

Stage 別の陽性率を見ると Table 2-1 のようになる。各酵素とも stage が進むに従い高い陽性率であった。stage 1 では AAP-I だけがほかの酵素に比較して高い陽性率 (26%) を認めていた。

2) T分類別

T分類別からみた各酵素の値を Table 3 に示した。腎摘出術のできなかった3例は画像診断により診

Table 1. Urinary enzyme and low molecular protein levels in controls and patients with renal cell carcinoma (NS: not significant)

	腎細胞癌症例 (n=32)	健 常 者 (n=18)	有意差
GP-DAB/day (U/day)	30.9 ± 34.7	12.0 ± 3.7	p<0.05
GP-DAP (U/L)	24.4 ± 35.9	13.5 ± 5.1	NS
NAG (U/L)	7.2 ± 17.7	4.1 ± 1.9	NS
AAP (U/L)	13.6 ± 12.1	7.8 ± 3.8	p<0.05
GP-DAP-I (U/g.cre)	29.6 ± 34.1	9.4 ± 2.1	p<0.01
NAG-I (U/g.cre)	8.3 ± 13.3	2.9 ± 1.1	p<0.05
AAP-I (U/g.cre)	19.3 ± 18.0	5.3 ± 1.8	p<0.01
β_2 -MG (μ g/L)	224.5 ± 591.3	157.3 ± 271.0	NS
α_1 -MG (mg/L)	4.7 ± 6.0	2.1 ± 1.7	NS

Table 2-1. Positive rate of urinary enzymes in pathological stage of renal cell carcinoma

Stage	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
1 (n=22)	3/22	3/22	3/22	6/22
3 (n=5)	4/5	4/5	3/5	3/5
4 (n=5)	4/5	5/5	3/5	3/5
全体 (n=32)	11/32 (32.3%)	12/32 (37.5%)	9/32 (28.1%)	12/32 (37.5%)

Table 2-2. Urinary enzymes in pathological stage of renal cell carcinoma *(P<0.01), **(P<0.05)

Stage	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
1 (n=22)	18.6±17.9	15.7±10.3	6.7±14.4	13.1±6.9
3 (n=5)	61.2±49.2	66.7±55.0	13.7±10.7	37.9±31.9
4 (n=5)	54.8±50.0	53.3±43.8	10.3±10.6	28.2±62.2
全体 (n=32)	30.9±34.7	29.6±34.1	8.3±13.3	19.3±18.8

Table 3. Urinary enzymes in T category of renal cell carcinoma **(P<0.05)

T分類	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
T1 (n=1)	13.5	14.4	2.9	9.9
T2 (n=27)	23.6±19.9	23.1±21.2	7.3±13.2	15.8±10.7
T3 (n=4)	84.8±67.1	77.0±68.1	16.6±14.3	45.5±36.2

Table 4. Urinary enzymes in histological grade of renal cell carcinoma *(P<0.01), **(P<0.05)

Grade	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
1 (n=17)	21.4±20.4	16.8±12.1	3.2±2.0	13.0±7.3
2 (n=8)	18.7±12.5	18.2±11.4	13.6±23.2	13.7±7.4
3 (n=4)	69.3±51.8	75.7±57.5	14.4±11.5	41.6±35.1

Table 5. Urinary enzymes in histological infiltrating type of renal cell carcinoma

INF	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
α (n=26)	21.8±18.7	18.0±12.1	6.7±13.3	13.3±7.1
β (n=3)	75.0±61.9	88.4±63.1	17.4±12.1	50.7±36.7
Significance	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05

断した。症例数は T1 ; 1 例, T2 ; 27 例, T3 ; 4 例とばらつきがあった。腫瘍が進展するにしたがい高い値になっていたが, 統計学的な有意差を認めたのは GP-DAP/day と AAP-I だけであった。

3) 組織学的異型度 (grade) 別

組織学的異型度 (grade) から見た値を Table 4 に示した。grade 1 が 17 例, 2 が 8 例, 3 が 4 例であった。grade 1 と 3 の間には全ての酵素で有意差を認めた。GP-DAP/day, GP-DAP-I は grade 2 と 3 の間にも有意差を認めた。

4) 浸潤増殖様式別

浸潤増殖様式により見た結果を Table 5 に示した。INF- α が 26 例, β が 3 例であったが, いずれの酵素においても危険率 5% で有意差を認めていた。

5) 腫瘍の大きさ別

腫瘍の大きさと GP-DAP/day, GP-DAP-I, NAG-I, AAP-I についてその関連を調べたが, 腫瘍の大き

さと各酵素の値には相関を認めなかった。

6) 発育様式別

発育様式から見た酵素の値を Table 6 に示した。膨張型が 26 例, 中間型が 3 例であったが, 膨張型と中間型の間には危険率 5% で, いずれの酵素においても有意差を認めていた。

7) 組織学的細胞型別

組織学的細胞型より見た酵素の値を Table 7 に示した。症例数が 1 例ずつであるが, 多型細胞型・紡錘細胞型において全ての酵素で著しく高い値を示していた。淡明細胞型と混合型の間には NAG-I において有意差を認めていた。

8) 組織学的構築型別

組織学的構築型より見た酵素の値を Table 8 に示した。充実型において他の 4 型に比べ高い値を認め, 胞巣型との間には有意差を認めた。

以上の結果からは腎癌の予後を悪くするような因子

Table 6. Urinary enzymes in tumor development of renal cell carcinoma

発育様式	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
膨張型 (n=26)	21.8±18.7	18.0±12.1	6.7±13.3	13.3±7.1
中間型 (n=3)	75.0±61.9	88.4±63.1	17.4±12.1	50.7±36.7
Significance	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05

Table 7. Urinary enzymes in histological cell type of renal cell carcinoma ** (P<0.05)

細胞型	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
淡明細胞型 (n=22)	22.5±20.0	17.9±11.7	6.4±14.4	12.8±7.1
混合型 (n=3)	21.1±15.9	23.7±17.1	8.6±4.1	18.5±7.5
顆粒細胞型 (n=2)	13.8±2.9	11.0±0.6	4.2±2.2	11.9±2.4
多型細胞型 (n=1)	141.8	140.8	29.9	89.0
紡錘細胞型 (n=1)	63.7	106.5	16.5	47.4

Table 8. Urinary enzymes in histological structure of renal cell carcinoma * (P<0.01), ** (P<0.05)

	GP-DAP/day (U/day)	GP-DAP-I (U/g.cre)	NAG-I (U/g.cre)	AAP-I (U/g.cre)
胞巢型 (n=17)	24.3±20.9 *	20.1±13.3 **	3.9±3.1 **	14.3±8.1 **
充実型 (n=3)	86.0±48.7	94.9±52.3	17.3±12.2	50.2±37.4
乳頭型 (n=3)	11.1±2.3	12.2±1.6	26.5±37.9	10.0±2.1
腺管型 (n=2)	14.8±1.8	12.8±2.3	3.7±3.0	9.3±0.8
囊胞型 (n=4)	14.2±5.0	11.5±3.6	3.9±3.0	13.9±6.0

になるほど高い値になる傾向であった。

3. GP-DAP の組織活性について

2症例について腎細胞癌と正常部分の腎組織中のGP-DAP濃度を検討した。2症例ともに尿中GP-DAPは1日排泄量, index共に健常者の2倍以上であるが, 組織抽出液の濃度は, 癌組織の部分には正常部分に比べ5分の1および20分の1と低値を示していた。なお組織抽出はHamaら⁹⁾の方法により抽出しGP-DAP測定用Kitを用いて日立705にて測定した(Table 9)。

考 察

腎細胞癌の治療としては, 化学療法, 免疫療法, ホルモン療法による完全治癒は期待しがたく, 現段階では手術による完全切除しか有効な方法はないように思われる。このためには早期発見が最も重要な因子になると思われる。最近多くの施設より超音波やCTにより偶然発見される腎腫瘍の報告が多数されるようになってきている。実際, 今回の腎細胞癌症例32例中20例は症状のまったくない偶然に発見されたものであった。このように腎細胞癌においては過去の3徴と言われるような症状を伴うことは, きわめて稀なことであ

Table 9. GP-DAP activities in normal and cancerous renal tissue

症例	正常腎組織 (U/g wet tissue)	癌組織	尿中1日排泄量 (U/day)
Case 1	19.9	3.9	34.8
Case 2	27.6	1.4	37.4

り, より早期の発見が最も重要になってくるように思われる。このためにはより簡単に, より多くの人に施行できるようなmass screeningも可能な特異的な腫瘍マーカーの発見が必要になってくる。今回は近位尿管に特異的に多く含まれている3つの酵素と低分子蛋白について検討を加えたが, GP-DAP, NAG, AAPの3つの酵素は健常者に比べ有意に高い値を示し, 予後を悪くしている因子においては高い値を認め, その有用性は認められた。しかし健常者の2倍以上を陽性とした場合の陽性率は30%前後であり, とりわけstage 1においては12~26%でありmass screeningをめざす腫瘍マーカーとしての価値はさほど高いものではないように思われた。しかしstage 3・4, T分類のT3, grade分類のgrade 3など進行性の腎癌症例においては高い値を認め, 進行性腎癌のマーカーの価値はあるように思われた。この酵素のう

ち一つである GP-DAP の組織活性を測定したが, Table 9 に示すがごとく正常腎組織に比べ, 癌組織の酵素活性は低く, 逆になぜ尿中酵素活性が腎細胞癌症例において高くなるのかは不明であった. 腫瘍の圧迫による腎虚血に伴う尿管障害説や, 腫瘍化した尿管からの逸脱などが考えられるが, その機序は不明である.

腎細胞癌の尿中マーカーに関しては Hemmingsen ら⁶⁾は haptoglobin, transferrin, β_2 -microglobulin などの尿中蛋白を測定し60~70%の陽性率を認めている. 東条ら⁹⁾は β_2 -microglobulin を測定し6症例中5例上昇を認めたと述べている. 宮田ら⁷⁾は尿中 NAG を測定し stage I の腎細胞癌症例に有意に高い値を認めたと述べている. しかし β_2 -microglobulin はほぼ健常者と同じレベルであったと述べている. 塚田ら⁸⁾は少数例である NAG, AAP を測定し約50%に尿中酵素の上昇を認め腎摘出術後には正常になったと述べている. しかし今回のわれわれのデータからは β_2 -microglobulin では健常者と有意差がなく, NAG, AAP では健常者に比べ高い値を認めたが, 陽性率では30%程度であった. 最近では田中ら²⁾はカルシウム結合蛋白である S 100- α 蛋白質を61例の腎細胞癌症例に測定し, 63.9%の症例において上昇を認め, stage, grade と共に高い値を示し, 腎細胞癌の組織中濃度は健常部腎組織の4倍であったと報告しており大きな期待の寄せられるものと思われた.

結 語

健常者を対照にして腎細胞癌症例に対して尿中酵素・低分子蛋白の排泄量を検討した.

1, 健常者に比較し尿中酵素である GP-DAP, NAG, AAP は有意に高い値であったが, β_2 -microglobulin, α_1 -microglobulin は有意差を認めなかつ

た.

2, 腎細胞癌症例における GP-DAP, NAG, AAP の陽性率は30%前後であった.

本論文の要旨は第38回新潟癌治療研究会にて発表した.

文 献

- 1) 坂田安之輔: 腎細胞癌とシアル酸, IAP, 日泌尿会誌 80: 917-917, 1989
- 2) 田中純二, 高士宗久, 三矢英輔, 灰本 元, 加藤兼房: 腎細胞癌の腫瘍マーカー. 尿中 S100- α 蛋白質の測定. 日泌尿会誌 78: 2051-2059, 1987
- 3) 宮田和豊: 泌尿器科疾患における尿中 NAG の臨床的意義. 西日泌尿 48: 473-486, 1986
- 4) 宮田 擴, 木下智弘, 金咲光治, 道旗 敏, 野上登志子, 牧 淳: 各種腎疾患における尿中 Glycylprolyl Dipeptidyl-Aminopeptidase の意義. 医学と薬学 21: 1141-1152, 1989
- 5) Hama T, Okada M, Kojima K, Kato T, Matuyama M and Nagatu T Purification of dipeptidyl-aminopeptidase 4 from human kidney by anti dipeptidyl-aminopeptidase 4 affinity chromatography, Mol Cell Biochem 43: 35-42, 1982
- 6) Hemmingsen L and Skaarup P: Urinary excretion of plasma proteins in patients with renal carcinoma. Scand J Urol Nephrol 11: 41-46, 1977
- 7) 東條俊司, 大橋輝久, 大森久之, 陶山文三, 広中孝行: 尿路器疾患における尿中 β_2 -microglobulin に関する臨床的研究. 西日泌尿 47: 1025-1030, 1985
- 8) 塚田 隆, 坂口往子, 谷口 豊, 太田信隆, 鈴木和雄, 田島 惇, 阿曾佳郎: 腎癌における尿中 NAG, AAP. 日腎誌 26: 580-580, 1984

(Received on December 8, 1989)

(Accepted on February 17, 1990)

(迅速掲載)